

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**КОПІОВА Надія Вікторівна**

УДК 616.853-08:615.213:616-092.9

**ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ХРОНІЧНОЇ СУДОМНОЇ  
АКТИВНОСТІ В УМОВАХ МОДЕЛІ ЕПІЛЕПТИЧНОГО  
СИНДРОМУ, ВИКЛИКАНОГО ЗА ДОПОМОГОЮ  
ІПЛОКАРПІНУ**

14.03.04 - патологічна фізіологія

**А в т о р е ф е р а т**  
дисертації на здобуття наукового  
ступеня кандидата медичних наук

Одеса - 2018

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Одеському національному медичному університеті МОЗ України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України **ШАНДРА Олексій Антонович**, Одеський національний медичний університет МОЗ України, м. Одеса, завідувач кафедри фізіології

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор **КЛИМЕНКО Микола Олексійович**, Чорноморський національний університет імені Петра Могили МОН України, м. Миколаїв, проректор з науково-педагогічної роботи та питань розвитку, професор кафедри фізичної та медичної реабілітації

доктор медичних наук, професор **НАСІБУЛЛІН Борис Абдуллайович**, ДУ «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса, професор, завідувач відділу фундаментальних досліджень

Захист відбудеться 24 січня 2018 р. о 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01 при Одеському національному медичному університеті МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 2).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського національного медичного університету МОЗ України (65082, м. Одеса, Валіховський пров., 3).

Автореферат розісланий 22 грудня 2017 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01,  
д. мед. н., з. д. н. т. України, професор

В. В. Годован

## **ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Епілепсія характеризується хронічним перебігом і виникненням повторних судом. Дане захворювання представляє собою велику групу клінічних станів, яким піддаються люди різного віку. Одним з проявів епілепсії є розвиток спонтанних судом (СС) [Carter D. et al., 2011; Новикова Ю. Г. 2015; Никитина М. А. и соавт., 2015], які є максимальним ступенем епілептизації мозку [Strigaro G. et al. 2015; Pietrafusa N. et al., 2015; Elkommos S. et al., 2015]. Патофізіологічні механізми розвитку спонтанних судом недостатньо вивчені, дослідження цих механізмів є важливими для з'ясування внутрішніх процесів в нейрональних мережах ЦНС з метою розробки адекватних і ефективних схем патогенетичної терапії епілепсії. Розуміння цих процесів наблизить дослідників до з'ясування патофізіологічних механізмів відтермінованих судом і дозволить розробити патогенетично обґрунтовані методи корекції хронічної епілепсії. Для успішного проведення патофізіологічних досліджень в умовах хронічної епілепсії необхідно вибрати адекватну експериментальну модель. Для відтворення СС була обрана модель епілепсії з введенням агоністу мускаринових холінергічних рецепторів пілокарпіну [Scorza F. A. et al., 2009]. Оскільки СС розвиваються непрогнозовано, при цьому невизначеними залишається тривалість латентного періоду їх виникнення, та чинників, які суттєво на це впливають.

Експериментальний епілептичний статус (ЕС), що відтворюється за допомогою пілокарпіну, характеризується, крім виникнення гострих судом, ще й стадією СС, відомості щодо тривалості яких є суперечливими [Toyoda I. et al., 2015; Gorter J. A. et al., 2016]. Водночас поведінкові реакції тварин, наприклад, їх спонтанна локомоторна активність в тесті «відкритого поля», емоційна, харчова та інші види активності, та їх зв'язок з розвитком СС досі залишаються недостатньо вивченими [Kalemenev S. V. et al., 2015; Wolf D. C. et al., 2016]. З урахуванням того, що епілепсія характеризується значною фармакорезистивністю (у 30 % хворих), доцільним було з'ясувати ефективність протисудомних препаратів з різним механізмом дії - діазепаму, фенобарбіталу, вальпроєвої кислоти, дифенілгідантоїну і карбамазепіну - та їх вплив на розвиток СС. Не досліджені також структури мозку, які впливають на розвиток пілокарпін-викликаних відтермінованих СС. Тому пошук цих утворень мозку також є одним з завдань сучасної нейропатології.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана в рамках науково-дослідної роботи кафедри фізіології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України «Нейропатологічний аналіз механізмів розвитку скроневої епілептичної

активності та розробка методів її корекції” (№ держреєстрації 0111U003345). Дисертант є співвиконавцем цієї теми.

**Мета і завдання дослідження.** *Мета* роботи - визначити патофізіологічні механізми та структурні субстрати розвитку відтермінованих спонтанних судом в умовах моделі пілокарпін-викликаного хронічного епілептичного активності у щурів, та участь поведінкових феноменів в формуванні патологічного процесу у цих тварин.

Відповідно до поставленої мети сформульовано такі *завдання* дослідження

1. З'ясувати особливості відтворення пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом у щурів, стадії та тривалість спонтанних судом.

2. Ідентифікувати електрографічні зміни активності в структурах головного мозку під час хронічної стадії пілокарпін-викликаного судомного синдрому.

3. Визначити структури мозку, що впливають на розвиток та поширення епілептичного активності в умовах хронічного епілептичного синдрому.

4. З'ясувати вплив протиепілептичних препаратів з різними механізмами реалізації дії на розвиток спонтанних судом.

5. Визначити зв'язок змін рухової активності, емоційного стану та процесів навчання щурів з параметрами хронічної стадії пілокарпін-викликаного судомного синдрому за допомогою тесту «відкрите поле».

*Об'єкт дослідження* – патофізіологічні механізми розвитку хронічної епілепсії.

*Предмет дослідження* – патофізіологічні механізми відтермінованих спонтанних судом, відтворених за допомогою пілокарпину, у щурів.

*Методи дослідження* – патофізіологічні, електрофізіологічні, фізіологічні, фармакологічні, статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше показано, що у щурів після введення пілокарпину відзначалися стадійні судомні, поведінкові та електроенцефалографічні (ЕЕГ) зміни, внаслідок яких через 20-25 днів розвивалися відтерміновані спонтанні судоми. Їх розвитку передували гострі судоми, вираженість, а також поведінкові і електрографічні характеристики, яких відрізнялися від параметрів спонтанних судом.

Вперше встановлено, що тривалість періоду, протягом якого у щурів спостерігалися спонтанні судоми, складав 40-48 днів. Виявлено пряму залежність збільшення кількості епізодів спонтанної судомної активності від тривалості та інтенсивності гострої стадії судомних реакцій в умовах моделі пілокарпін-індукованого епілептичного синдрому.

На підставі аналізу даних ЕЕГ-реєстрації у тварин зі спонтанними судомами вперше показано, що у 65,7 % щурів вентральний гіпокамп був першим утворенням мозку при ініціації спонтанних судом, в якому посилювалася електрографічна активність.

Вперше показано, що діазепам, фенобарбітал і вальпроева кислота мають антиепілептичну дію за умов пілокарпін-викликаних спонтанних судом. Протисудомні ефекти цих препаратів корелювали з нормалізацією під їх впливом моторної активності тварин у тесті «відкрите поле» та емоційної поведінки.

Вперше показано, що у щурів протягом 20-25 днів після введення пілокарпіну зменшується вираженість активної дослідницької поведінки в тесті «відкрите поле», зростає опір спробам взяття в руки і повністю зникає дослідницька активність в тесті з 8-радіальним лабіринтом. Найбільш виражені зміни дослідницької і емоційної поведінки спостерігалися вже через 10 днів після введення пілокарпіну. В цей час у тварин не змінюється поріг больових реакцій.

Вперше встановлено, що у тих щурів, у яких згодом розвивалися спонтанні судоми, когнітивні порушення проявлялися погіршенням формування харчового умовного рефлексу, неможливістю його збереження, а також його більш швидким згасанням. При цьому показано, що розвиток спонтанних судом супроводжувався подальшим розвитком когнітивних порушень.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дисертаційної роботи мають важливе значення для розширення існуючих уявлень про механізми формування відтермінованих спонтанних судом в умовах їх індукції пілокарпіном.

Отримані результати щодо зміни поведінки протягом латентного періоду після введення пілокарпіну є єдиною клінічною ознакою, яка передуює розвитку спонтанних судом, оскільки подібні поведінкові зміни були відсутні у щурів, у яких не відзначали розвиток пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом. Виявлені когнітивні порушення в умовах розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом свідчать про адекватність використаної моделі відповідному клінічному стану, що дозволяє рекомендувати її використання при фундаментальних дослідженнях, присвячених з'ясуванню патофізіологічних механізмів розвитку спонтанної судомної активності і розробки методів її комплексної патогенетичної корекції.

Отримані дані щодо протисудомної дії діазепаму, фенобарбіталу та вальпроевої кислоти є перспективними для розробки патогенетично обґрунтованих методів профілактики та лікування хронічних форм епілепсії, що характеризуються розвитком спонтанних судом.

Отримані результати впроваджені в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Івано-Франківського національного медичного університету, Запорізького державного медичного університету, кафедрах фізіології, загальної та клінічної патологічної фізіології та неврології Одеського національного медичного університету.

**Особистий внесок дисертанта.** Дисертація є самостійною науковою працею

автора. Дисертантом особисто обрано напрям, об'єм і методи дослідження, проведено патентно-інформаційний пошук по темі дослідження, сформульовано мету і завдання дослідження. Автором особисто виконано весь обсяг експериментальних досліджень та статистичну обробку отриманих результатів. Аналіз результатів, отриманих при відтворенні та дослідженні механізмів розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судом, здійснено при участі професора, д. мед. н., Вастьянова Р.С., за що автор висловлює щирю подяку. Дисертантом самостійно проведено підготовку наукових праць до публікації, зроблено аналіз та узагальнення отриманих результатів, сформульовані висновки дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали і положення дисертаційної роботи представлені на: міжнародній науково-практичній конференції VI, і XI читаннях ім. В.В. Подвисоцького (Одеса, 2007, 2012), Об'єднаному пленумі Російського і Московського наукових товариств патофізіологів «Дизрегуляционная патология», присв. 85-річчю з дня народження академіка Г. М. Крижановського (Москва, 2007), IV конференції Українського товариства нейронаук, присв. 100-літтю з дня народження академіка НАН України П.М. Серкова (Донецьк, 2008), V національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів» (Запоріжжя, 2008), 8 Європейському Конгресі з епілептології (Берлін, 2008), всеросійській Ювілейній науково-практичній конференції «Актуальные проблемы клинической неврологии», присвяченій 85-річчю з дня народження професора В. С. Лобзіна (Санкт-Петербург, 2009), науково-практичній конференції «Актуальні питання соматоневрології» (Луганськ, 2010), XVIII-му (Одеса, 2010) та XIX (Київ, 2014) з'їздах Українського фізіологічного товариства, VII Південноукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні проблеми атеросклерозу - від гіпотез до фактів» (Одеса, 2012), науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (Одеса, 2013), VI Конгресі Українського товариства нейронаук, присв. 90-річчю академіка НАН України П. Г. Костюка (Київ, 2014).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукових праць: 9 статей у фахових наукових журналах, рекомендованих МОН України (з них 1 оглядова, 1 - у журналі, включеному до міжнародних наукометричних баз), 1 стаття в іноземному періодичному науковому журналі, 12 тез доповідей на міжнародних конференціях, з'їздах та конгресах.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 204 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, списку використаної літератури, додатків.

Роботу ілюстрована 16 таблицями і 28 рисунком. Бібліографічний покажчик включає 292 джерела, з них 48 – кирилицею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи досліджень.** Дана робота проводилася згідно норм біоетики (протокол Комісії з біоетики ОНМедУ МОЗ України № 94-А від 29.01.2016 р.). Дослідження проведені за умов хронічного експерименту на 470 дорослих (6 місячних) щурах-самцях лінії Вістар, яких утримували в звичайних умовах віварію, які відповідно за серіями досліджень були ранжировані на групи: відтворення пілокарпін-викликаних відтермінованих спонтанних судом (n=50); деструкція та стимуляція медіодорзального і серединного ядер таламуса (n=83); деструкції та стимуляції окремих підкіркових утворень та фронтальних відділів кори мозку (n=126); аналіз ефектів антиепілептичних препаратів з різними механізмами реалізації протисудомної дії (n=108); дослідження поведінки в тесті «відкрите поле» (n=54); визначення змін процесів навчання у щурів під час хронічної стадії пілокарпін-викликаного судомного синдрому (n=49). Моделювання епілептичного синдрому здійснювали за допомогою М-холіноміметика пілокарпіну гідрохлориду («Sigma-Aldrich», Німеччина), який розчиняли в 0,9 % розчині натрію хлориду вводили внутрішньоочеревинно (в/очер) дозою 380 мг/кг. За 30 хв до цього, тваринам з метою запобігання розвитку периферичних холіноміметичних ефектів пілокарпіну, вводили М-скополамін (1,0 мг/кг; підшкірно; «Sigma-Aldrich», Німеччина). Тваринам контрольної групи вводили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину натрію хлориду. Інтенсивність судом оцінювали за 6-бальною шкалою [Racine R. J. et al. 1972].

Після ін'єкції конвульсанта щурів поміщали в індивідуальні прозорі пластмасові камери (10x25x30 см) і спостерігали в першу добу протягом 2 год. Надалі за поведінкою і судомною активністю щурів спостерігали візуально, з понеділка по п'ятницю, по 30 хв протягом кожної години, протягом 6 год, з 10.00 до 16.00. Поведінку тварин до 10.00 і після 16.00 реєстрували за допомогою відеокамери з подальшим аналізом та оцінкою поведінки кожного щура. Подальші дослідження здійснювали тільки на тих тваринах, у яких розвивалися СС.

Імплантацію електродів і канюль робили за тиждень до введення пілокарпіну за Волошиним М.Я. (1987) відповідно до атласу Paxinos G. (2012) за такими координатами: фронтальна кора великих півкуль - AP=2,4; L=0,8; H=1,2; тім'яна кора великих півкуль - AP=0,8; L=1,5; H=1,4; потилична кора великих півкуль - AP=-4,6; L=1,3; H=1,4; вентральний гіпокамп - AP=-4,8; L=4,5; H=7,0; вентромедіальний таламус - AP=-3,8; L=0,7; H=6,3; верхні горбики чотиригорбикового тіла - AP=-6,3; L=2,0; H=4,5 Для імплантації електродів тварину наркотизували за допомогою

ін'єкцій кетаміну (2,0 мг/кг; в/очер; «Sigma-Aldrich», Німеччина). Реєстрацію електричної активності та вивчення поведінкових реакцій здійснювали через 7-10 днів після стереотаксичних втручань та через 10-12 днів після ін'єкцій пілокарпіну. В окремих серіях досліджень за вказаними стереотаксичними координатами здійснювали електричну стимуляцію (частота 60 Гц, сила струму 20-40 мкА, тривалість прямокутного імпульса 0,25 с, тривалість подразнення - 1с) та селективну деструкцію (введенням розчину іботенової кислоти (5,0-10,0 мкг; «Sigma-Aldrich», Німеччина)) фронтальної кори великих півкуль, вентрального гіпокампу (ВГ) та верхніх горбиків чотиригорбикового тіла (ВГЧТ). Локалізацію розташування електродів та місця деструкції верифікували на серійних зрізах замороженого мозку.

Час реєстрації ЕЕГ був однаковим для всіх тварин - з 10.00 до 16.00. Для оцінки ЕЕГ використовували частоту опитування 256 імпл/с за допомогою аналого-цифрового перетворювача (National Instruments, USA). Частотний діапазон сигналів склав 0,5-40 Гц. 16-секундні епохи запису ЕЕГ піддавали аналізу Фур'є («Labview-5,0», США). При цьому виключали ділянки ЕЕГ, що містили артефакти. Частотні діапазони класифікували в такий спосіб: 0,5-4, 4-8, 8-12, 12-25, 25-40 Гц ( $\delta$ -,  $\theta$ -,  $\alpha$ -,  $\beta$ - та  $\gamma$ - хвилі, відповідно).

За станом і поведінкою тварин, за судомною активністю, моторною функцією, емоційним та іншими типами поведінки спостерігали через 1, 5, 10, 15, 20, 25 і 45 днів з моменту введення пілокарпіну, враховуючи те, що на 45 день СС були вже сформовані. Спостереження здійснювали протягом 49 днів з моменту виникнення СС.

Для пригнічення спонтанної судомної активності (ССА) щурам в/очер вводили діазепам (ДЗ) («Sigma-Aldrich», Німеччина), дозами 5,0, 10 і 15 мг/кг, фенобарбітал (ФБ) («Sigma-Aldrich», Німеччина), дозами 10, 15 і 20 мг/кг, вальпроєву кислоту (ВК) («Sigma-Aldrich», Німеччина), дозами 150, 250 мг/кг, дифенілгідантоїн (ДФГ) («Sigma», США), дозами 75, 100 і 150 мг/кг і карбамазепін («Sigma», США), дозами 5,0, 15 і 20 мг/кг. Антиепілептичні препарати вводили через 2 год після розвитку ЕС 2 рази з інтервалом 12 год тим щурам, які вижили після фази гострих судом та пілокарпін-індукованого ЕС. Для розрахунку дози препаратів, які попереджали пілокарпін-викликані СС, застосовували метод пробіт-аналізу [Реброва О.Ю., 2002].

Спонтанну рухову активність тварин досліджували у тесті «відкритого поля» за методиками Шабанова П.Д. (2007). Вивчення стереотипної поведінки проводили шляхом визначення кількості тварин, у яких спостерігали стереотипні обнюхування, облизування чи гризіння [Мамиліна Н. В. 2011]. Виразність агресивно-оборонної поведінки оцінювали за характером поведінкової відповіді тварин на спробу взяття в руку і виражали в балах за шкалою Post R.M. (1981). Емоційну поведінку тварин визначали в тесті 8-променевого радіального лабіринту.

Поріг больової чутливості визначали при мінімальній силі струму, який



подавали до металевої підлоги камери (40x20 см), який викликав індивідуальну больову реакцію у вигляді підстрибування або уникнення з платформи трьома кінцівками, у тому числі двома задніми кінцівками [Kalynchuk L. E. et al., 1998]. У щурів після введення пілокарпіну визначали особливості формування умовного (харчового) рефлексу, збереження сформованого раніше умовного рефлексу і згасання умовного рефлексу [Буреш Я. та співавт., 1991]. Дані досліди мали деякі методичні особливості, які полягали в тому, що протягом часу спостереження не було відомо заздалегідь, у яких щурів СС розвинуться, а у яких будуть відсутні. Таким чином, результати даних досліджень та їх аналіз подавали ретроспективно.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою загальноприйнятих методів аналізу з використанням параметричних та непараметричних критеріїв [Герасимов А.Н., 2007]. Для розрахунку ED<sub>50</sub> застосовували метод пробіт-аналізу. Статистичну обробку робили на персональному комп'ютері за допомогою програми статистичного аналізу "Primer Biostatistics". Мінімальну статистичну вірогідність визначали при  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** *Особливості розвитку спонтанної судомної активності в умовах пілокарпін-викликаного епілептичного статусу.* Протягом перших 2-5 хв після в/очер введення пілокарпіну гідрохлориду (380 мг/кг) у 92,0 % (46 щурів з 50) переважали вегетативні порушення, які проявлялися у вигляді гіперсалівації, підвищеного занепокоєння, посилення грумінга, обнюхування, посилення рухової активності, почастищення дихання, посилення дефекації. У всіх щурів дослідної групи в середньому через 17-25 хв після введення пілокарпіну розвивалися судоми, які спочатку носили характер міоклонічних здригувань і тремору м'язів морди, голови і передніх кінцівок (рис. 1).

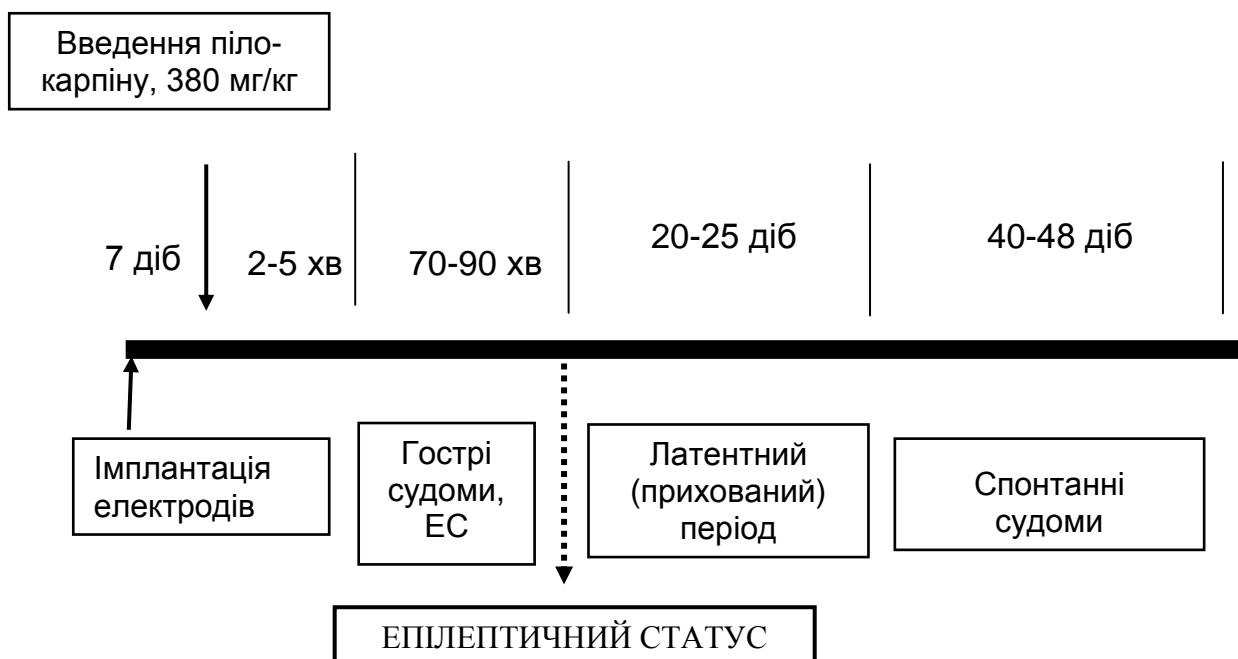


Рис. 1 Схема експерименту

Протягом наступних 15-20 хв у всіх тварин ці судоми трансформувалися в клонічні скорочення м'язів тулуба, передніх і задніх кінцівок, після чого у всіх щурів розвивалися генералізовані клоніко-тонічні напади.

Після 1-6 генералізованих нападів у 42 тварин із 50 розвивався ЕС (8 щурів загинули), тривалість якого становила в середньому 70-90 хв (див. рис. 1). У 39 щурів з 42 (92,9 %), які вижили після ЕС, протягом наступних після нього 20-25 діб реєструвалися інтенсивні дослідницькі реакції, посилення грумінга, незначне збільшення горизонтальної рухової активності. У 3 тварин (7,1 %) відзначали гіподинамію, зменшення рухів і загальмованість.

У 37 щурів з 50 (74,0 %) упродовж ЕС спостерігалися повторні судомні напади, які характеризувалися переважними клоніко-тонічними нападами, що відповідали 5 балам за загальноприйнятою шкалою оцінки важкості судомних реакцій (до їх числа входять і загиблі тварини). У 11 щурів з 50 (22,0 %) відзначали міоклонічні здригання голови, що відповідало 1 балу. Судомні прояви у 2 з 50 (4,0 %) тварин відзначали у вигляді клонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок і підйомів щурів на задні лапи, що відповідало 3 балам.

Латентний період, який тривав 20–25 діб після розвитку ЕС, характеризувався відсутністю судомних реакцій у щурів. На 26-у добу після ЕС у 35 щурів з 42 (83,3 %) розвинулися спонтанні судомні реакції, які спочатку мали вигляд незначних міофасціальних здригань і сіпань голови. У 7 тварин з 42 (16,7 %) ССА була відсутньою протягом усього часу спостереження (49 діб після ЕС) - до 74 дня з моменту початку досліджу. Отже, пілокарпін-індуковані спонтанні судомні реакції були зареєстровані у 35 тварин.

Спонтанні судоми проявлялися у вигляді дрібноамплітудних міоклонічних скорочень м'язів передніх кінцівок, які реєстрували у 26 щурів з 35 (74,3 %). У 2 щурів з 35 (5,7 %) СС відзначали у вигляді міоклонічних скорочень м'язів передніх і задніх кінцівок. У 7 з 35 щурів (20,0 %) протягом усього періоду спостереження реєстрували незначні за виразністю міофасціальні здригання і оральні автоматизми.

В наступній частині роботи досліджували зв'язок між тривалістю ЕС та кількістю щурів зі СС. Протягом першого дня спостереження, з моменту виникнення ССА, 12 епізодів СС, спостерігали в одного щура з 35. Тривалість ЕС у нього була рівна 107 хв. По 10 і 11 епізодів ССА були зареєстровані у 8 і 4 щурів з 35, відповідно. Тривалість ЕС у цих тварин склала  $76,1 \pm 6,9$  і  $83,0 \pm 7,4$  хв, відповідно. У 7 з 35 щурів були зареєстровані 9 епізодів ССА, причому середня тривалість ЕС у них склала  $70,7 \pm 7,1$  хв. У 4 і 5 щурів з 35, відповідно, було 6 і 7 епізодів ССА – середня тривалість ЕС у них була рівна  $49,3 \pm 3,9$  і  $54,1 \pm 4,4$  хв, відповідно. У 3 щурів з 35 ми відзначено 5 епізодів, пілокарпін-викликаний ЕС у них тривав протягом  $42,5 \pm 4,3$  хв. І ще у 2 тварин з 35 із середньою тривалістю ЕС протягом  $25,1 \pm 2,7$  хв були зареєстровані 3 епізоди ССА.

В ході подальших спостережень дійшли висновку про пряму залежність між тривалістю судом, їх інтенсивністю під час гострої стадії ЕС та ймовірністю розвитку спонтанних судомних реакцій. Спонтанні судоми не розвивалися в разі припинення ЕС через 15 хв після його початку. Коефіцієнт рангової кореляції Спірмена в цих спостереженнях склав 0,68, що свідчить про помірно виражений зв'язок досліджуваних явищ.

*Зміни електричної активності утворень мозку і ділянок кори протягом генерації спонтанних судом.* Під час латентного періоду після ЕС, тобто через 22 доби після введення конвульсанту, на ЕЕГ у 23 щурів з 35 (65,7 %) реєстрували активність, яка характеризувалася низькоамплітудними асинхронно виникаючими спайковими потенціалами з амплітудою, що не перевищує 1,8 мВ в правій і лівій фронтальній корі і 2,5-3,0 мВ - у правому та лівому гіпокампі (рис. 2, А).

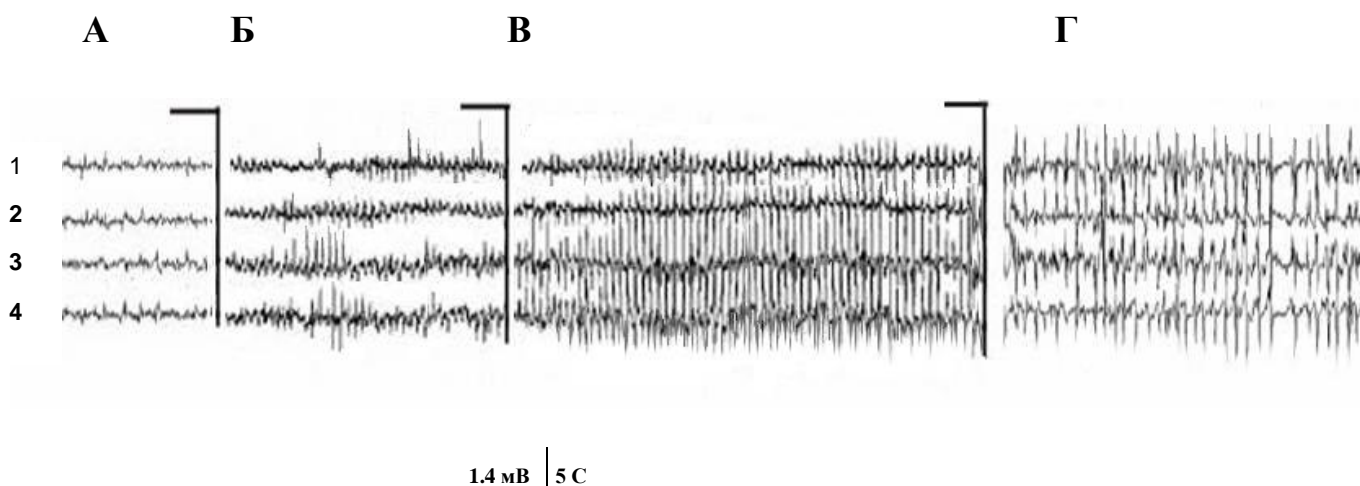


Рис. 2 ЕЕГ щурів при пілокарпін-викликаних спонтанних судамах

А - фоновая активність, через 22 доби після введення пілокарпіну.

Б - через 9 хв після А. В - через 11 хв після А.

Г - через 12 хв після А.

1 - ліва лобова кора, 2 - права лобова кора, 3 - лівий вентральний гіпокамп, 4 - правий вентральний гіпокамп. Відмітка часу - 5 с, калібрування сигналу - 1,4 мВ

За 2 хв до СС, у всіх досліджуваних структурах на ЕЕГ цих щурів відзначалася переважно синхронізована високоамплітудна активність з частотою потенціалів до 7-9 на хв (рис. 2, Б.) Під час виникнення ССА в ЕЕГ цих щурів реєструвалися спайкові потенціали, які генерувалися з частотою до 11-13 за хв в обох гіпокампах. У неокортексі частота потенціалів складала 8-9 за хв. Амплітуда потенціалів в лобовій корі і гіпокампі становила 1,2-1,6 мВ. Тривалість ССА становила в середньому 50-70 с і характеризувалася появою в ЕЕГ високочастотної спайкової

активності, яка спостерігалася в гіпокампі та з розрядами в неокортексі одночасно (рис. 2, В). Протягом наступної хвилини активність на ЕЕГ, пов'язана з розвитком ССА, трансформувалася у гострі спайкові потенціали частотою 9-11 за хв і амплітудою до 1,6-1,7 мВ (рис. 2, Г), що поведінково відповідало дрібноамплітудним скороченням м'язів морди, голови і передніх кінцівок (2 бали за прийнятою шкалою оцінки тяжкості судом).

У 22,9 % (8 щурів з 35) ЕЕГ-картина була іншою: після фонові активності, що відзначалася протягом 26 діб після введення пілокарпіну і трансформувалася у епілептиформну активність, остання на ЕЕГ у всіх досліджуваних утвореннях мозку змінювалася низькоамплітудною повільною активністю, ідентичною такій, яка реєструвалася до ініціації ССА з переважанням повільно-хвильових комплексів, найбільша амплітуда яких (20-30 мкВ) відзначалася в неокортексі. При реєстрації ЕЕГ-активності не вдалося виявити переважання активності нейронів гіпокампу і кори мозку, у всіх досліджуваних структурах синхронно починала генеруватися надмірна електрична активність, що передувала розвитку СС.

У 11,4 % (4 щурів з 35) ЕЕГ активність, що передувала розвитку СС, характеризувалася раннім залученням до генерування епілептиформної активності кори мозку. Повільні спайк-хвильові комплекси і наступні за ними загострені спайкові потенціали раніше генеруються нейронами лівої лобової кори мозку.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що в більшій частині випадків перші епілептиформні розряди генерують нейрони гіпокампу, після яких з незначним відставанням починають генерувати активність коркові нейрони.

*Роль структур мозку, відповідальних за ССА.* З урахуванням функціональної активності стосовно регуляції реактивності мозку та належності щодо епілептичної та антиепілептичної систем [Shandra A. A. et al., 2009] досліджували роль ВГ, ВГЧТ та фронтального відділу кори мозку в механізмах розвитку СС.

В контрольній групі (щури, у яких розвинулися СС) тривалість гострої стадії ЕС склала в середньому  $72,3 \pm 6,7$  хв У щурів із активацією ВГ, деструкцією ВГЧТ тривалість гострої стадії ЕС склала  $70,0 \pm 6,5$  та  $65,0 \pm 6,2$  хв відповідно. Середня тривалість стадії гострих судом у щурів з активацією фронтальних відділів кори мозку склала  $59,9 \pm 6,1$  хв, що було на 14,0 % менше порівняно з аналогічними контрольними результатами ( $p > 0,05$ ). Величина досліджуваного показника була суттєво менше в групах щурів із деструкцією ВГ і склала  $36 \pm 6$  хв ( $p < 0,01$ ), активацією ВГЧТ дорівнювала  $24 \pm 3,7$  хв ( $p < 0,001$ ) та деструкцією фронтальної кори, де середня тривалість гострої стадії пілокарпін-індукованого ЕС склала  $13,7 \pm 2,8$  хв ( $p < 0,001$ ). У жодної з тварин останніх груп не спостерігали розвитку СС. (рис. 3).

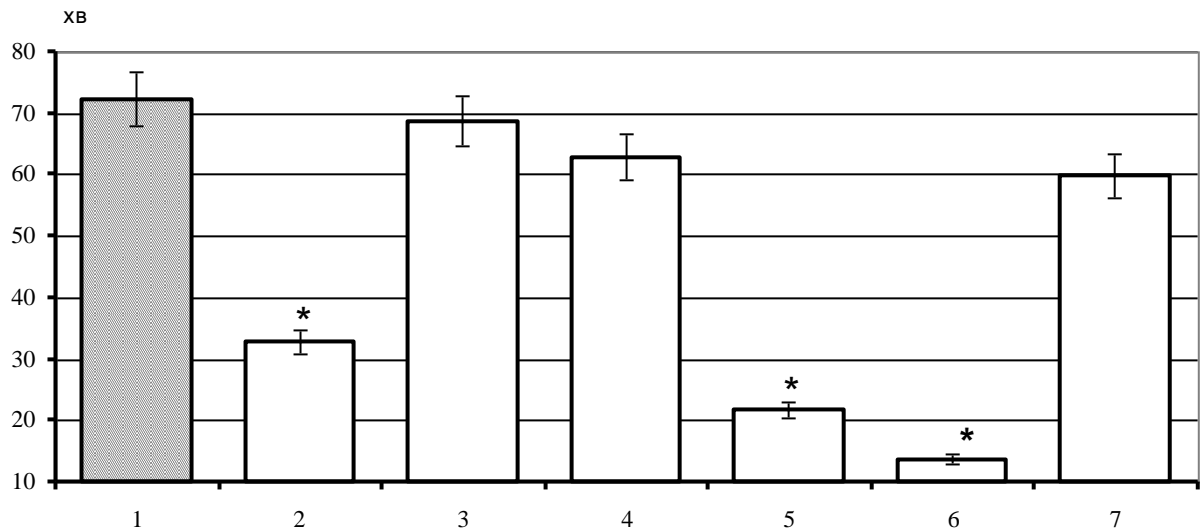


Рис. 3 Тривалість гострої стадії епілептичного статусу у щурів внаслідок локальної деструкції, стимуляції вентрального гіпокампу, верхніх горбиків чотиригорбикового тіла та фронтальних відділів кори мозку щурів і введення пілокарпіну цим щурам

ось ординат: тривалість гострої стадії пілокарпін-викликаного ЕС (хв)

ось абсцис: 1 - контроль (введення пілокарпіну), 2 - деструкція ВГ, 3 - стимуляція ВГ, 4 - деструкція ВГЧТ, 5 - стимуляція ВГЧТ, 6 - деструкція фронтальних відділів кори мозку, 7 - стимуляція фронтальних відділів кори мозку

\* -  $p < 0,05$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з таким у щурів контрольної групи.

При активації фронтальних відділів кори мозку і введенні пілокарпіну у 7 з 18 щурів розвинулися СС, що суттєво не відрізнялося порівняно з аналогічними контрольними показниками; при активації ВГ та при деструкції ВГЧТ спонтанні судоми виникали у 9 з 18 щурів у кожній групі.

Отримані дані свідчать про опосередкування процесу розповсюдження судомної активності у мозку підкірковими утвореннями та фронтальним відділом кори мозку. Тому що розвиток СС за умов активації ВГ, фронтальної кори, деструкції ВГЧТ в щурів цих груп був аналогічним з такими показниками у щурів контрольної групи. Зворотні результати були отримані при деструкції ВГ і фронтальної кори та активації ВГЧТ.

*Вплив протиепілептичних препаратів на розвиток пілокарпін-індукованих спонтанних судом.* У наступних дослідженнях вивчили ефективність протисудомних препаратів з різним механізмом реалізації антиепілептичного ефекту - ДЗ, ФБ, ВК, ДФГ і КБЗ - в умовах розвитку пілокарпін-індукованих СС.

У разі введення максимальної дози ДЗ (15 мг/кг) середня тривалість стадії гострих генералізованих судом, що індукуються пілокарпіном, була удвічі коротша порівняно з відповідними даними в контролі ( $p < 0,001$ ). Спонтанні судоми розвинулися у 8,0 % щурів, що мало статистичну різницю порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ).

Після введення максимальної дози ФБ (20 мг/кг) середня тривалість стадії гострих пілокарпін-індукованих судом була в 2,8 рази менше порівняно з відповідними даними в контролі ( $p < 0,001$ ). Спонтанні судоми розвивалися у 23,0 % щурів, що вижили після гострих судом, що мало істотну відмінність порівняно з аналогічними результатами в контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ).

Після введення ВК (250 мг/кг) середня тривалість стадії гострих генералізованих судом, що індукуються пілокарпіном, була на 42,6 % менше порівняно з відповідними даними в контрольних спостереженнях ( $p < 0,001$ ). Спонтанні судоми розвивалися у 33,0 % щурів ( $p < 0,05$ ).

При введенні ДФГ та КБЗ досліджувані показник залишалися високими, зіставними з такими, які реєструвалися в щурів після введення конвульсанту.

*Поведінкові зміни в динаміці формування спонтанних судом.* Кількість пересічених квадратів і вертикальних стійок у щурів з розвиненими згодом СС через 25 днів після введення пілокарпіну становила  $3,2 \pm 0,4$  та  $1,0 \pm 0,2$  відповідно, що в 6,4 і 4 рази менше порівняно з аналогічними контрольними показниками у щурів, зареєстрованими до і через 25 днів після введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ). Кількість заглядань в отвори «відкритої арени» у щурів склало  $1,02 \pm 0,10$ , що було на 81,4 % менше порівняно з відповідними показниками у щурів контрольної групи в аналогічний період спостереження ( $p < 0,001$ ) і в 2 рази менше відносно аналогічних показників у контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$ ).

Кількість епізодів грумінга у щурів дослідницької групи було в 5,5 рази більше відносно аналогічних показників у щурів контрольної групи і в 5 разів більше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення пілокарпіну ( $p < 0,001$  в обох випадках). Кількість дефекацій у щурів, у яких згодом розвинулися СС, склала  $8,27 \pm 0,54$ , що було, відповідно, в 2,1 і на 63,8 % більше порівняно з такими показниками в контрольних спостереженнях до введення і через 25 днів після ін'єкції пілокарпіну ( $p < 0,001$ ).

Формуванню СС передуює поступова, протягом 25 днів, редукція показників горизонтальної і вертикальної рухової активності, зниження вираженості дослідницької поведінки, а також посилення вираженості стереотипної поведінки - епізодів грумінгу та кількості дефекацій.

При дослідженні емоційної поведінки виявилось, що через 1 добу після введення пілокарпіну кількість входів в рукава лабіринту у щурів, у яких згодом розвивалися СС після введення пілокарпіну, становила  $26,1 \pm 3,0$  щодо загальної

кількості входів у всі рукава лабіринту, в 2,55 рази більше відповідних показників в контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ; табл. 1).

Таблиця 1

Зміни показників поведінки щурів в тесті радіального піднятого лабіринту в динаміці формування спонтанних судом

Досліджувані показники/ Групи тварин	Дні з моменту введення пілокарпіна, $M \pm m$					
	1	5	10	15	20	25
<i>Входи в рукава</i>						
Контроль, n=10	10,5±1,5	12,5±1,2	10,5±1,0	9,5±1,0	9,0±0,9	8,0±0,8
Щури з СС, n=35	26,1±3,0*	19,2±1,7*	11,2±1,6	6,9±0,6*	3,2±0,4*	0,7±0,1*
Щури без СС, n=9	14,2±1,4	15,6±1,4	12,7±1,3	10,7±1,3	9,5±1,1	8,7±0,9
<i>Час знаходження в рукавах</i>						
Контроль, n=10	9,0±0,9	9,5±0,9	13,0±1,0	14,5±1,5	15,0±1,5	14,5±1,0
Щури з СС, n=35	24,2±2,3*	20,7±2,2*	13,6±1,4	8,9±0,6*	3,3±0,3*	0,5±0,1*
Щури без СС, n=9	12,6±1,2	12,4±1,2	12,6±1,2	13,1±1,2	13,5±1,2	11,8±1,1
<i>Кількість заходів в закриті ділянки рукавів</i>						
Контроль, n=10	9,5±0,9	10,0±0,9	10,5±1,0	10,0±1,0	9,5±0,9	9,2±0,9
Щури з СС, n=35	10,3±1,1	9,8±0,9	9,2±0,8	8,9±0,8	8,7±0,8	8,3±0,7
Щури без СС, n=9	9,2±0,9	9,6±0,9	9,9±0,9	9,7±0,9	9,4±0,8	8,7±0,8

Примітки: \* -  $p < 0,05$  - достовірні відмінності досліджуваних показників порівняно з аналогічними даними у щурів контрольної групи (статистичний критерій ANOVA + Newmann - Keuls)

Загальний час знаходження в рукавах у щурів цієї групи склав  $24,2 \pm 2,3$  щодо загального часу перебування у всіх рукавах лабіринту, в 2,75 рази більше показників у контрольних спостереженнях ( $p < 0,05$ ).

Через 25 днів після введення пілокарпіну показники поведінки щурів, у яких СС не розвивалися, не мали статистичних відмінностей порівняно з аналогічними контрольними показниками ( $p > 0,05$ ). У решти щурів зі СС після введення пілокарпіну середні показники кількості входів в рукава лабіринту і часу перебування в них склали  $0,7 \pm 0,1$  і  $0,5 \pm 0,1$ , що в 11,4 рази і в 29,0 разів, відповідно, було менше порівняно з контрольними показниками ( $p < 0,001$ ). Середня кількість

заходів в закриті ділянки рукавів лабіринту склала  $8,3 \pm 0,7$ , що істотно не відрізнялося від аналогічних показників у щурів контрольної групи ( $p > 0,05$ ).

Також у щурів з розвинутими СС виявлялися когнітивні дисфункції, що проявлялися погіршенням формування харчового умовного рефлексу, неможливістю збереження, а також більш швидким його згасанням - відсутністю опору при гальмуванні умовного рефлексу при відсутності умовного підкріплення. Зареєстровані порушення поведінки і мнестичні дисфункції були виявлені тільки у тих щурів, у яких згодом розвивалися пілокарпін-викликані СС, і були відсутні у тварин, у яких введення конвульсанту не сприяло розвитку СС реакцій. Подібне дозволяє трактувати розвиток зазначених порушень поведінки як характеристику періоду часу, який передує розвитку СС.

Отримані дані дозволяють припустити, що розвиток когнітивних дисфункцій є однією з характерних особливостей пілокарпін-індукованих СС, причому вираженість їх розвитку прогресувала по мірі збільшення часу після введення конвульсанту, досягаючи максимуму під час розвитку безпосередніх СС реакцій.

## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального науково-практичного завдання, яке полягає у визначенні патофізіологічних механізмів розвитку пілокарпін-викликаних спонтанних судомних реакцій у щурів та змін поведінкових феноменів у цих тварин. Отримані дані є перспективними для розробки патогенетично обґрунтованих методів лікування хронічних форм епілепсії.

1. Частота розвитку спонтанних судом у щурів мала пряму залежність від тривалості та інтенсивності епілептичного статусу. Спонтанні судомні реакції розвивалися через 20-25 діб після розвитку гострих пілокарпінових судом у 84,0 % щурів і тривали протягом 40-48 діб.

2. За локалізацією первинного вогнища, відповідального за розвиток спонтанних судом розрізняють 3 групи: вентральний гіпокамп 65,7 % щурів, фронтальні відділи кори 11,4 % щурів, гіпокамп і кора мозку синхронно 22,9 % щурів. Маніфестація спонтанних судом виникала за умов вираженого переважання амплітуди хвиль  $\alpha$ - та  $\delta$ -діапазонів в гіпокампі.

3. Спонтанні судоми корелюють зі структурно-функціональними змінами гіпокампу, фронтальної кори та верхніх горбиків чотиригорбикова тіла. За умов селективної деструкції цих структур та стимуляції верхніх горбиків чотиригорбикова тіла відбувалося зменшення кількості щурів зі спонтанними судомами.

4. Виявлено, що антиепілептичну дію відносно спонтанних судом надавали діазепам, фенобарбітал та вальпроєва кислота дозами  $9,64 \pm 0,98$  мг/кг,  $15,53 \pm 1,54$



мг/кг,  $284,50 \pm 27,30$  мг/кг, відповідно. Протисудомні ефекти цих препаратів корелювали з нормалізацією моторної активності тварин у тесті «відкрите поле» ( $p < 0,05$ ) та емоційної поведінки ( $p < 0,05$ ). Разом з тим дифенілгідантоїн і карбамазепін не впливали на виникнення судом. Зважаючи на механізм реалізації протисудомної дії діазепама, фенобарбітала і вальпроєвої кислоти, ймовірно, що до патогенетичних механізмів пілокарпін-індукованих спонтанних судом залучені процеси компретації ГАМК-ергічного гальмування.

5. Розвиток спонтанних судом, спричинив формування у щурів порушень поведінкових реакцій, що пов'язано зі змінами у гіпокампі та фронтальній корі, про це свідчить позитивний ефект застосування антиконвульсантів, точкою прикладення яких є гіпокамп. Також розвиток спонтанних судом характеризувався погіршенням формування харчового умовного рефлексу, неможливістю його збереження та більш швидким його згасанням. Розвиток пілокарпін-викликаних спонтанних судом не припиняв, а посилював формування когнітивних порушень та їх вираженість. Кореляція поведінки та розвитку спонтанних судом обумовлена тим, що поведінка пов'язана з підкірковими структурами залученими в епілептичну систему, тому тонкі здвиги поведінки можуть служити прогностичними критеріями тяжкості і тривалості спонтанних судом.

## СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Шандра О. А., Копйова Н. В. Патологические механизмы развития спонтанной судорожной активности. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2008. № 2 (14). С. 7–17. *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції теми та схеми проведення наукової роботи*

2. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Особенности эмоциональной поведінки щурів в динаміці розвитку пілокарпін-спричинених спонтанних судом. *Український медичний альманах*. 2009. Т. 12, № 1. С. 28–33. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, аналіз та статистична обробка результатів, оформлення статті до друку*.

3. Копйова Н. В. Спонтанна судомна активність за умов пілокарпін-індукованого епілептичного статусу: характеристика моделі. *Досягнення біології та медицини*. 2009. № 1 (13). С. 17–23.

4. Копйова Н. В. Динаміка формування когнітивних дисфункцій як одна з характеристик моделі спонтанних судом за умов пілокарпін-спричиненої хронічної епілепсії. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2009. Т. 9, вип. 2 (26). С. 62–66. (Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії: статті Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Полтава, 2009 р.).

5. Копйова Н. В. Дослідження рухової та емоційної поведінки щурів за умов пілокарпін-індукованої моделі спонтанних судом. *Український медичний альманах*. 2009. Т. 12, № 2, додаток. С. 102–104.

6. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Патологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2009. № 3 (17). С. 135-145. *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку.*

7. Вастьянов Р. С., Копйова Н. В. Дослідження ролі серединних ядер таламусу в механізмах розвитку спонтанних судом. *Перспективи медицини і біології*. 2010. Т. 2, № 2. С. 28-30. *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку*

8. Вастьянов Р. С., Копьева Н. В. Различные эффекты некоторых противосудорожных препаратов в условиях пилокарпин-вызванных спонтанных судорог. *Український медичний альманах*. 2010. Т. 13, № 4. С. 24–26. (Актуальні питання соматоневрології: матеріали наук.-практ. конф., м. Луганськ, 28-29 жовтня 2010 р.). *Внесок дисертанта: участь в розробці загальної концепції наукової роботи, оформлення статті до друку.*

9. Kopyova N. V. Roles of the Frontal Cortex and Subcortical Structures in the Mechanisms Underlying the Development of Pilocarpine-Induced Seizures in Rats. *Neurophysiology*. 2014. Vol. 46, N 3. P. 281-283.

10. Копйова Н. В., Ляшенко С. Л., Топал М. М. Дослідження патогенетичних механізмів спонтанних судом за умов пілокарпін-спричиненої моделі хронічного судомного синдрому. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 5, N 8. P. 159-176. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, участь в оцінці результатів, оформлення статті до друку.*

11. Копйова Н. В. Особливості моделі спонтанних, хронічних судом, індукованих пілокарпіном. *Бюлетень VI читань ім. В.В. Подвисоцького, присвячених до 150-річчя з дня народження*, м. Одеса, 31 трав.- 1 черв. 2007 р. Одеса, 2007. С. 79–80.

12. Дизрегуляторные механизмы хронической эпилептической активности / Шандра А. А., Денисенко О. В., Копьева Н. В., Кащенко О. А. *Патогенез*. 2007. Приложение 1. С. 26. (Тезисы Объединенного пленума Российского и Московского научных обществ патофизиологов, посвященный 85-летию академика Крыжановского Г. Н., г. Москва, 13–14 ноября 2007 г.). *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, участь у систематизації та оформленні тез до друку.*

13. Роль эпилептогенных систем в развитии хронической эпилептической активности / Шандра А. А., Копйова Н. В., Вастьянов Р. С., Кащенко О. А. *Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти*. 2008. Т. 4, № 1 (додаток). С. 71. (Матеріали IV конф. Україн. товариства нейронаук, присв. 100-літтю з дня народж. ак. НАН України П.М. Серкова, м. Донецьк, 10–12 червня 2008 р.). *Внесок дисертанта: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.*

14. Шандра А. А., Копьёва Н. В. Электрографическая характеристика самопроизвольных отсроченных судорог у крыс в условиях модели пилокарпин-вызванного эпилептического статуса. *Патологія*. 2008. Т. 5, № 2. С. 84. (Матеріали V націон. конгресу патофізіологів України «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів», м. Запоріжжя, 17–19 вересня 2008 р.). *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.*

15. Vastyanov R., Kopyova N., Shandra A. Antiepileptic effect of high-frequency stimulation and bilateral anterior thalamic nucleus lesions on pilocarpine-induced status epilepticus and spontaneous seizures. *Abstracts from the 8<sup>th</sup> Eur. Congr. on Epileptology*. Berlin, 21–25 September 2008. P. 193–194. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів.*

16. Копьёва Н. В. Патологические механизмы отсроченных пилокарпин-вызванных спонтанных судорог. *Актуальные проблемы клинической неврологии: материалы всерос. юбил. науч.-практ. конф., посв. 85-летию проф. Лобзина В. С., г. Санкт-Петербург, 29-30 сент. 2009 г. СПб., 2009. С. 212–213.*

17. Копйова Н. В. Дослідження механізмів розвитку спонтанної судомної активності за умов пілокарпін-індукованих судом. *Фізіологічний журнал*. 2010. Т. 56, № 2. С. 38–39. (Матеріали XVIII з'їзду Українського фізіологічного товариства з міжнар. участю, м. Одеса, 20–22 трав. 2010 р.)

18. Копйова Н. В. Модель пілокарпін-індукованих спонтанних відстрочених судом в якості методики вивчення патофізіологічних механізмів хронічного епілептогенезу. *Сучасні проблеми атеросклерозу – від гіпотез до фактів: тези доповідей VII Південноукраїнської наук.-практ. конф., м. Одеса, 11 квітня 2012 р. Одеса., 2012. С. 119.*

19. Копйова Н. В. Характеристика пілокарпін-спричинених відтермінованих спонтанних судом у щурів. *Бюллетень XI чтений им. В.В. Подвысоцкого*, г. Одесса, 24-25 мая 2012 г. Одесса, 2012. С. 74–75.

20. Копйова Н. В., Топал М. М. Дослідження електричної активності мозку щурів за умов пілокарпін-індукованого хронічного судомного синдрому. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини: тези наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присв. 100-річчю з дня народження К. Д. Двужильної*, м. Одеса 2013 р. Одеса, 2013. С. 45. *Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, виступ з доповіддю на конференції.*

21. Копйова Н. В. Провідна роль вентрального гіпокампу в регуляції збудливості мозку в умовах пілокарпін-індукованих спонтанних судом. *Фізіологічний журнал*. 2014. Т. 60, № 3 (додаток). С. 40. (Тези доповідей XIX з'їзду Українського фізіолог. тов. ім. П.Г. Костюка з міжнар. участю, присв. 90-річчю від дня народження ак. П.Г. Костюка, м. Київ, 26-29 трав. 2014 р.)

22. Копйова Н. В. З'ясування патофізіологічної ролі фронтальної кори мозку та підкіркових утворень в механізмах розвитку спонтанних пілокарпін-індукованих судом. *Тези доповідей VI міжн. конгр. укр. товариства нейронаук, присв. 90-річчю академіка НАН України та НАМН України П. Г. Костюка*, м. Київ, 4-8 червня 2014 р. К., 2014. С. 76.

## АНОТАЦІЯ

*Копйова Н. В.* Патолофізіологічні механізми хронічної судомної активності в умовах моделі епілептичного синдрому, викликаного за допомогою пілокарпіну. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія» (22 – Охорона здоров'я). - Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2018.

Дисертація присвячена дослідженню патофізіологічних механізмів розвитку відтермінованих спонтанних судом за умов пілокарпін-індукованої хронічної моделі епілептичної активності в щурів, а також оцінки динаміки зміни поведінки тварин для розробки прогностичних критеріїв розвитку спонтанних судом. Було виявлено пряму залежність частоти розвитку спонтанних судом від тривалості гострих пілокарпін-індукованих судом. В більшості щурів вентральний гіпокамп є першим утворенням мозку, в якому підсилюється активність при ініціації спонтанних судом. Антиепілептичну дію за умов пілокарпін-індукованих спонтанних судом надають діазепам, фенобарбітал і вальпроева кислота. Розвитку спонтанних судом передують редукція спонтанної моторної активності та дослідницької поведінки, підсилення вираженості емоційної поведінки, а також когнітивні дисфункції. Отримані дані є перспективними для розробки патогенетично обґрунтованих методів лікування хронічних форм епілепсії, що характеризуються розвитком спонтанних судом.

*Ключові слова:* пілокарпін, спонтанні судоми, хронічна судомна активність, рухова, емоційна поведінка, патофізіологічні механізми.

## АННОТАЦИЯ

*Копьёва Н. В.* Патолофизиологические механизмы хронической судорожной активности в условиях модели эпилептического синдрома, вызванного с помощью пилокарпина. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (доктора философии) по специальности 14.03.04 «Патологическая физиология» (22 - Охрана здоровья). - Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины, Одесса, 2018.

Диссертация посвящена исследованию патофизиологических механизмов развития отсроченных спонтанных судорог в условиях пилокарпин-вызванной хронической модели эпилептической активности у крыс, а также оценке динамики изменения поведения животных для разработки прогностических критериев развития отсроченных спонтанных судорог. Была выявлена прямая зависимость частоты развития спонтанных судорог от длительности острых пилокарпин-вызванных судорог. У большинства крыс вентральная гиппокамп является первой структурой мозга, в которой усиливается активность при инициации спонтанных судорог. Антиэпилептическое действие в отношении пилокарпин-вызванных

спонтанных судорог оказывают диазепам, фенобарбитал и вальпроевая кислота. Развитию спонтанных судорог предшествуют редукция двигательной активности и исследовательского поведения, усиление выраженности эмоционального поведения, а также когнитивные дисфункции. Полученные данные являются перспективными для разработки патогенетически обоснованных методов лечения хронических форм эпилепсии.

*Ключевые слова:* пилокарпин, спонтанные судороги, хроническая судорожная активность, двигательное, эмоциональное поведение, патофизиологические механизмы.

## SUMMARY

*Koryova N. V.* Pathophysiological mechanisms of chronic seizure activity in a model of epileptic syndrome, caused by using pilocarpine. - Qualification scientific work on the rights of manuscript.

Thesis for a scientific degree of Candidate of medical sciences (Doctor of philosophy) in speciality 14.03.04 «Pathological physiology» (22 – Health Care). - Odessa National Medical University Ministry of Public Health of Ukraine, Odessa, 2018.

The thesis is devoted to solving one of the actual problems - the research of pathophysiological mechanisms of delayed spontaneous seizures in a pilocarpine-induced chronic model of epileptic activity in rats, as well as assessing the dynamics of change in animal behavior to develop prognostic criteria of delayed spontaneous seizures.

In rats, after administration of pilocarpine (380 mg / kg, ip), a complex of behavioral and electrographic disorders characteristic of epileptic status develops, characterized by high mortality, staging and development of spontaneous delayed seizures. Spontaneous convulsions develop 20-25 days after administration of pilocarpine, lasting 40-48 days, with a direct dependence of the frequency of development on the duration of acute pilocarpine-induced seizures.

A study of the electroencephalographic activity of the rat brain during spontaneous seizures made it possible to conclude that in most rats the ventral hippocampus is the first brain structure in which activity is enhanced when initiating spontaneous delayed seizures.

The modulation of activity of the mid-nuclei of the thalamus - mediodorsal nucleus and connective nucleus, as well as the frontal cortex of the rat brain determine the appearance of delayed spontaneous pilocarpine-induced convulsive reactions.

Ventral hippocampus was shown to be the first brain structure in the majority of rats which enhances the activity at the initiation of spontaneous seizures.

Antiepileptic action against pilocarpine-induced spontaneous seizures is caused by diazepam, phenobarbital and valproic acid. Diphenylhydantoin and carbamazepine have no effect on the development of delayed spontaneous spasms induced by pilocarpine. Diphenylhydantoin and carbamazepine have no effect on pilocarpine-mediated impairment

of motor activity in rats in the open-field test and emotional behavior in response to attempts to take in hands. Taking into account the mechanism of realization of the anticonvulsant action of diazepam, phenobarbital and valproic acid, it is possible to conclude that processes that contribute to the compromise of GABA-ergic inhibition are involved in the pathogenetic mechanisms of the development of pilocarpine-induced spontaneous seizures.

The development of spontaneous seizures is preceded by the reduction of spontaneous motor activity and research behavior, increased expression of emotional behavior, and cognitive dysfunction in a test with a radial 8-ray elevated labyrinth. The revealed cognitive impairments in the conditions of pilocarpine-induced spontaneous convulsive reactions development, in addition to electrographic and behavioral disorders, testify to the adequacy of the model used to the corresponding clinical state, which allows us to recommend its use in fundamental studies on the elucidation of the pathophysiological mechanisms of the development of spontaneous convulsive activity and the development of methods for its complex pathogenetic correction.

Development of pilocarpine-induced seizures preceded by reduction of spontaneous motor activity and exploratory behavior, increased severity of emotional behavior, and cognitive dysfunction.

Thereby, after injection of pilocarpine, there was observed expressed cognitive disturbance, which were apparent deterioration of the formation of conditioned reflex, inability to save it, as well as more rapid fading of it's.

The data obtained are widened our knowledge about the pilocarpine-induced spontaneous seizures. They are important for the epilepsy chronic forms with spontaneous seizures development pathogenetic treatment performing out.

*Key words:* pilocarpine, spontaneous seizures, chronic seizure activity, motor, emotional behavior, pathophysiological mechanisms.

